

学校编码: 10384

分类号 密级

学号: 24520131153466

UDC

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**细胞外基质蛋白 mindin 与整合素
CD11b/CD18 相互作用并激活 Syk-MAPK
和 NF- κ B 途径促进巨噬细胞的趋化、吞噬**

**The extracellular matrix protein Mindin and integrin
CD11b/CD18 axis promote neutrophils migration and
phagocytosis via Syk-MAPK and NF- κ B pathway**

刘源生

指导教师姓名: 巴亚斯古楞教授

专 业 名 称: 内科学

论文提交日期: 2016 年 4 月

论文答辩日期: 2016 年 5 月

学位授予日期: 2016 年 6 月

2016 年 5 月

细胞外基质蛋白 α 1indin 与整合素 CD11b/CD18 相互作用并激活 Syk-MAPK 和 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 促进巨噬细胞的趋化、吞噬

刘源生

指导教师

巴亚斯古楞教授

厦门大学

2.5cm

2.5cm

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

Mindin（也称为 spondin2）作为 F/M-spondin 家族的一员是一种结构高度保守的细胞外基质蛋白，含有 FS1、FS2 和 WSXW 模序的 TSR 结构域，在先天性免疫系统中具有重要的作用^[1]。近期研究发现，作为模式识别分子 mindin 能直接与细菌的表面抗原比如脂多糖（LPS），磷脂（LTA）等结合^[2]。Mindin 基因缺陷型小鼠能抵抗脂多糖引起的感染性休克，并且清除细菌感染能力受损^[3]。巨噬细胞以及肥大细胞表现出对广谱细菌刺激缺陷的反应，他们分泌的炎症细胞因子 TNF- α 和 IL-6 有明显的缺失^[4]。故本课题主要探讨 mindin 对巨噬细胞的招募和吞噬作用的机制及下游的信号通路。

本课题研究首先构建了一种趋化反应体外模型，即利用琼脂糖包被 mindin 重组蛋白诱导巨噬细胞趋化，成功模拟并检测 mindin 具有招募巨噬细胞、中性粒细胞的功能。其次，本课题应用吞噬实验，利用荧光显微镜和流式细胞术检测巨噬细胞对荧光乳胶微粒的吞噬个数，发现 mindin 能促进巨噬细胞的吞噬作用。此上研究方法模拟了炎症环境，降低其他炎症因子的干扰，对单一因子对炎症的反应的研究具有参考意义。再次，本课题还利用 CIPHER 的技术筛选出整合素 CD11b 和 CD18 等 5 种配体与 mindin 具有相关性，通过免疫共沉淀明确 mindin 能与 CD11b 与 CD18 相互结合。为了进一步明确其结合结构域，我们通过分子克隆方法，构建了 mindin 与 CD11b/CD18 不同片段的质粒进行免疫共沉淀，发现 mindin 的 FS 片段与整合素 CD11b/CD18 的 α α 11 区域结合，并用放射线同位素标记 mindin 测出这两者的亲和力。为了验证 mindin 是否通过整合素 CD11b/CD18 的途径诱导巨噬细胞的趋化和吞噬作用，我们利用 CD11b/CD18 的中和抗体 M1/70，M18/2 阻断与 mindin 结合，在趋化和吞噬模型中 mindin 的作用明显下降。可见 mindin 是通过与整合素 CD11b/CD18 的相互作用诱导巨噬细胞的趋化和吞噬功能。用 western blot 和核浆分离等技术进一步发现 mindin 能促进整合素 CD11b/CD18 下游的 syk 的磷酸化，并且沿着 MERK1/2-ERK1/2 这条通路，而非 AKT 通路。

本课题以构建体外的炎症模型的实验方法研究 mindin 在炎症反应中的功能

并探讨了 mindin 在炎症中主要与整合素 CD11b/CD18 的相互作用促进巨噬细胞的趋化和吞噬。并且明确了其下游的信号通路包括促进整合素 CD11b/CD18 下游 Syk 的磷酸化和 MEK、ERK 的磷酸化,诱导 NF 酸化,诱导 D 的入核,激活 NF 核,途径。进一步明确了 mindin 是整合素 CD11b/CD18 众多配体中的一员,有助于探讨 mindin 在炎症性反应之外的生物学功能及作用机制。

关键词: mindin 整合素 CD11b/CD18 炎症反应 Syk NF B 通路

Abstract

Mindin (also known as spondin2) as one of M-spondin family member is a highly conserved cellular matrix proteins. It contains F-spondin domains 1 and 2 (FS1 and FS2) at the N-terminus and thrombospondin type 1 repeats (TSR) at the C-terminus and has been known to play prominent roles in the regulation of inflammatory responses. Recent studies have found mindin as a pattern recognition molecule interact with bacteria and their components such as lipopolysaccharide (LPS), phospholipids (LTA). The capabilities of eliminate the invading microbial pathogens and responding to a broad spectrum of microbial stimuli have been impaired in mindin-deficient mice. Macrophages and mast cells exhibit defects in response to stimulation of a broad spectrum of bacteria, they secrete inflammatory cytokines TNF- α and IL-6 significantly missing. But mindin bind to cell surface receptors, pro-inflammatory cytokine production, activation of synergistic mechanism of signal transduction pathways is still unknown. Therefore, this paper mainly discusses the mechanisms of mindin on macrophage recruitment and phagocytosis and signaling pathways downstream.

This research, we built a chemotactic response in vitro model that agarose-coated mindin recombinant protein induced macrophage chemotaxis to agarose edge. Using this model successfully simulated mindin in vitro recruitment of macrophages, neutrophils function. Phagocytosis experiments using fluorescence microscopy and flow cytometry number macrophage phagocytosis of fluorescent latex particles found mindin can promote macrophage phagocytosis. This research method to simulate an inflammatory environment, to reduce interference from other inflammatory factor, single factor has a reference for the study of inflammatory response. This paper also uses the CIPHER screened integrins CD11b and CD18 with five ligands mindin relevant. Experimental methods through further co-immunoprecipitation clear mindin can be combined with each other and CD11b and CD18. To further clarify its binding domains, we by molecular cloning method, constructed mindin and CD11b / CD18 plasmid different fragments

immunoprecipitation found FS fragment binds mindin with α M-I region integrin CD11b / CD18, and use radiation isotopically labeled mindin measured both affinity. In order to verify whether mindin way through the integrin CD11b / CD18 induction of chemotaxis and phagocytosis by macrophages, we use CD11b / CD18 neutralizing antibody M1 / 70, M18 / 2 block and mindin combined in chemotaxis and phagocytosis role model mindin decreased. Visible mindin through interaction with integrins CD11b induced macrophage chemotaxis / CD18 and phagocytosis. By western blot and nuclear plasma separation technology to further promote the discovery mindin phosphorylated integrin CD11b / CD18 downstream syk, and along MERK1 / 2-ERK1 / 2 this path, instead of AKT pathway.

mindin interaction with the integrin CD11b / CD18 promotes macrophage chemotaxis and phagocytosis depends on syk phosphorylation and MAPK pathways.

Keywords: mindin; integrin CD11b/CD18; Inflammation; syk; NF κ B pathway

目 录

摘要.....	I
目 录.....	V
第一章前言	1
1.1 炎症反应	1
1.2mindin 家族及其结构.....	2
1.3mindin 的功能.....	4
1.4 整合素 CD11b/CD18	5
1.5 NFκ.信号通路在炎症中的作用机制	7
1.6 研究目的及意义	8
第二章材料与方法	10
2.1 实验材料	10
2.2 实验方法	17
第三章结果和分析	25
3.1Mindin 诱导巨噬细胞趋化迁移并增强单核细胞粘附作用;	25
3.2 Mindin 是通过促进免疫异物与巨噬细胞结合的方式诱导吞噬:.....	27
3.3 筛选作为模式识别分子 mindin 的受体:	30
3.4mindin 能与整合素 CD11b/CD18 结合;.....	30
3.5 mindin 的 FS 片段和整合素的 CD11b/CD18 的 α M-I 区域能够结合;	32
3.6 检测中和抗体整合素 CD11b/CD18 对阻断其信号通路的能力;.....	33
3.7 阻断 α M-I 区域后 mindin 对巨噬细胞的吞噬功能下降;.....	34
3.8mindin 能促进整合素 CD11b/CD18 下游 syk、ERK1/2 的磷酸化	37
3.9 mindin 促进 RAW264.7 细胞中 NFκB-p65 的入核;.....	39
第四章讨论	41
4.1 Mindin 在炎症中的作用及机制:	41
4.2 整合素 CD11b/CD18 在炎症中的作用机制:.....	42

第五章结论与展望	44
结论:	44
展望:	44
参考文献.....	46
英文缩略词表	59
致谢.....	61

Table of Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	V
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 Inflammation.....	1
1.2 mindin family and structure.....	2
1.3 mindin function.....	4
1.4 integrin CD11b / CD18.....	5
1.5 NF κ B signaling pathway mechanisms in inflammation	7
1.6 Aim and Significance of Research.....	8
Chapter 2 Materials and Methods	10
2.1 Materials.....	10
2.2 Methods	17
Chapter 3 Experimental results and Conclusion	25
3.1 Mindin can induce macrophage chemotaxis migration and enhanced monocyte adhesion.....	25
3.2 Mindin is induced phagocytosis by promoting macrophages and foreign body immune combination.....	27
3.3 Screening as a pattern recognition receptor molecule mindin	30
3.4 Mindin binds to integrin CD11b / CD18	30
3.5 The FC fragment of mindin bind to the α M-I region of integrin CD11b / CD18	32
3.6 Detection the ability of integrin CD11b / CD18 antibody to block the signaling pathway	33
3.7 The ability of mindin on macrophage phagocytosis decreased after blocking α M-I region	34
3.8 The ability of mindin on macrophage chemotactic function decline after blocking α M-I region	37

3.9 Mindin promote integrin CD11b / CD18 downstream syk, phosphorylation of ERK1 / 2	39
Chapter 4 Conclusion and Prospect.....	41
4.1 Mindin effect and mechanism in inflammation	41
4.2 integrin CD11b / CD18 in the inflammatory mechanism of action.....	42
References	46

第一章前言

1.1 炎症反应

炎症反应是一个极其复杂的过程,中性粒细胞是炎症反应中研究最为广泛的细胞,又是功能最为复杂的细胞。在整个炎症反应过程中,中性粒细胞的作用主要有中性粒细胞的激活、迁徙及对病原体和损伤组织的清除。中性粒细胞通过表面模式识别受体与相关分子模式作用而得到激活,然后受体与表达在血管内皮上的配体相互作用进行迁徙,通过吞噬作用和脱颗粒的作用对病原体及损伤组织进行清除和修复。最新研究表明,中性粒细胞诱捕网在此过程中也起重要作用。总之,中性粒细胞在炎症反应的作用细节及复杂的相互关系仍是需要进一步研究的课题。炎症反应是最常见的一个病理过程之一,是机体对于炎症刺激的一种防御性反应。根据炎症的发生是受何种刺激因子的影响可分为感染性炎症和无菌性炎症两大类。无论在感染性还是在无菌性的自身免疫反应中,中性粒细胞都是作用于炎症反应的一线。其在感染性炎症中抵御和消灭病原体的入侵[5-6],而在无菌性炎症中对于组织和伤口的修复愈合具有重要意义,其功能对于人体生命至关重要。

1.1.1 中性粒细胞的激活

正常情况下,中性粒细胞处于未激活状态,在外周血循环中进行随意没有方向性的缓慢移动,半衰期仅6 ~ 7 h^[7-9]。一旦机体受到刺激发生炎症反应,各种刺激物将激活中性粒细胞,同时促进骨髓中中性粒细胞的分化成熟^[10]。中性粒细胞的激活可通过不同因素的促发,其中病原体所释放的病原体相关分子模式(PAMPs)和组织损伤所释放的损伤相关分子模式(DAMPs)是激活中性粒细胞的主要因素^[11-12]。中性粒细胞表达大量模式识别受体,这些受体可识别病原体本身产生的病原体相关分子模式而激活中性粒细胞^[13-14]。近年来,发现细胞因子和趋化因子也是激活中性粒细胞的重要因素,组织细胞和微生物产生的趋化因子对中性粒细胞的趋化效应和机体对抗病原体感染的过程中都发挥着重要作用^[15]。

1.1.2 中性粒细胞的趋化

激活的中性粒细胞迁徙到机体受刺激部位是一个复杂的多阶段过程^[16]；在细胞移动中的一个重要事件就是中性粒细胞的趋化作用，这个趋化作用涉及到两个独立而又相关联的过程，即流动性和方向性^[17-18]；这两个过程均是由细胞外的趋化刺激因素所调节的，被认为是依赖于细胞因子如IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α （TNF α ）表达的早期反应及趋化因子的产生如补体5a 和白三稀B4^[19-20]。

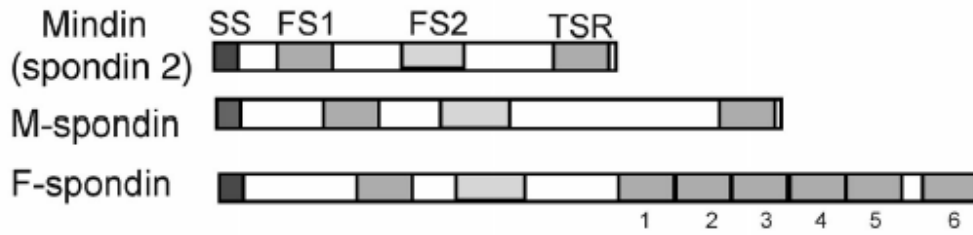
1.1.3 中性粒细胞的吞噬

中性粒细胞一旦到达炎性刺激区，与产生趋化因子的异物或者病原体接触后其周围胞质将隆起形成伪足，将入侵刺激物包围在其中^[21-23]。中性粒细胞上的特殊细胞表面的受体连接着敏感性G 蛋白，受体与异物或者病原体接触后可导致胞内钙离子移动、细胞迁徙、胞吐作用和生物活性类脂或活性氧的产生^[24]。由于中性粒细胞内含有大量溶酶体酶，中性粒细胞可以开始快速非特异性的吞噬反应，将吞噬入细胞内的细菌和组织碎片分解^[25-27]。

炎症反应是一个复杂的过程，中性粒细胞是炎症反应中研究最为广泛的细胞，又是功能最为复杂的细胞。在整个炎症反应过程中，中性粒细胞的作用涉及到中性粒细胞的激活、迁徙及对病原体和损伤组织的清除^[28-30]。中性粒细胞通过表面模式识别受体与相关分子模式作用而得到激活，然后其受体与表达在血管内皮上的配体相互作用进行迁徙，最终通过吞噬作用和脱颗粒作用对病原体及损伤组织进行清除^[31]。总之，中性粒细胞在炎症反应的作用细节及复杂的相互关系仍是需要进一步研究的课题。

1.2 mindin 家族及其结构

Mindin/F-spondin 家族包括斑马鱼的F-spondin、斑马鱼的Mindin1和Mindin2、果蝇属的M-spondin^[32-34]。Mindin是由Higashijima等^[35]于1997年在斑马鱼中发现。Mindin在N端含有FS1、FS2两个FS结构域在C端含有一个WSXW模序的TSR结构域，它是一种分泌蛋白可结合到细胞外基质上^[36-38]。他们都属于血小板型1（thrombospondin type1）的分子^[38]，如下图：



后来生物学家们又陆续克隆出人、和鼠的Mindin和F-spondin^[39-40]，在氨基酸水平，小鼠Mindin与大鼠、人类和斑马鱼的Mindin分别有97%，85%和60%的同源性^[40-42]。

如下图：

Mouse	MENVS	-	-	L	A	L	G	R	A	L	M	E	F	L	A	M	I	G	S	T	T	S	Q	P	L	G	G	E	S	V	C	T	A	R	P	L	A	R	Y	S	I	T	F							
Human	MENPS	P	A	A	L	G	K	A	L	C	A	L	L	A	L	G	L	G	A	A	G	Q	P	L	G	G	E	S	I	C	S	A	R	A	P	A	K	Y	S	I	T	F								
Rat	MENVS	-	-	F	S	L	D	R	T	L	M	E	F	L	A	M	I	G	S	T	T	S	Q	P	L	G	G	E	S	V	C	T	A	R	P	L	A	R	Y	S	I	T	F							
Zebrafish 2	METMT	-	-	S	L	R	V	N	C	W	L	T	M	E	L	L	L	S	G	V	P	A	M	P	V	D	D	R	M	C	T	A	P	S	T	A	K	Y	R	L	T	F								
Zebrafish 1	MMSSEH	L	V	P	G	W	L	C	Q	L	I	V	M	L	T	R	F	T	L	S	C	A	L	V	N	S	T	N	G	T	E	C	S	A	R	G	P	A	S	N	I	V	E							
	MEN	S						L				L	V		L	L	A		L	G			A		Q	P	L	G	G	E	S		C	T	A	R		A		Y	S	I	T	F						
Mouse	I	G	K	W	S	Q	T	A	F	P	K	Q	Y	P	L	F	R	P	P	A	Q	W	S	S	L	L	G	A	A	H	S	S	D	Y	S	M	W	R	K	N	E	Y	V	S	N	G	L	R	D	F
Human	T	G	K	W	S	Q	T	A	F	P	K	Q	Y	P	L	F	R	P	P	A	Q	W	S	S	L	L	G	A	A	H	S	S	D	Y	S	M	W	R	K	N	E	Y	V	S	N	G	L	R	D	F
Rat	T	G	K	W	S	Q	T	A	F	P	K	Q	Y	P	L	F	R	P	P	A	Q	W	S	S	L	L	G	A	A	H	S	S	D	Y	S	M	W	R	K	N	E	Y	V	S	N	G	L	R	D	F
Zebrafish 2	T	G	Q	W	T	Q	T	A	F	P	K	H	Y	P	L	R	P	P	A	Q	W	S	P	L	I	G	V	T	H	S	S	D	Y	H	L	W	O	R	N	E	Y	A	S	N	G	V	R	E	F	
Zebrafish 1	T	G	H	W	S	P	Q	T	E	P	K	Q	Y	P	L	F	R	P	P	A	Q	W	S	K	I	M	V	V	T	H	N	E	O	Y	R	I	W	O	E	G	A	P	A	S	D	G	M	K	S	E
	T	G	K	W	S	Q	T	A	F	P	K	Q	Y	P	L	F	R	P	P	A	Q	W	S	S	L	L	G	A	A	H	S	S	D	Y	S	M	W	R	K	N	E	Y	V	S	N	G	L	R	D	F
Mouse	A	E	R	G	E	A	W	A	L	M	K	E	I	E	A	A	G	E	K	L	O	S	V	H	A	V	F	S	A	P	A	V	P	S	G	T	G	Q	T	S	T	E	L	E	V	H	R	H	S	
Human	A	E	R	G	E	A	W	A	L	M	K	E	I	E	A	A	G	E	A	L	O	S	V	H	A	V	F	S	A	P	A	V	P	S	G	T	G	Q	T	S	A	E	L	E	V	H	R	H	S	
Rat	A	E	R	G	E	A	W	A	L	M	K	E	I	E	A	A	G	E	K	L	O	S	V	H	A	V	F	S	A	P	A	V	P	S	G	T	G	Q	T	S	A	E	L	E	V	H	R	H	S	
Zebrafish 2	S	E	R	G	E	A	W	T	L	I	K	E	V	E	A	A	G	E	R	I	O	S	V	Y	G	L	F	S	A	P	A	V	I	A	G	T	G	H	A	T	T	E	F	E	V	F	A	R	H	S
Zebrafish 1	A	E	O	G	L	I	T	V	D	L	V	K	D	A	K	E	A	R	K	R	I	R	S	V	G	S	M	Y	R	T	A	G	L	P	S	G	I	G	H	S	T	E	V	I	L	T	P	R	S	
	A	E	R	G	E	A	W	A	L	M	K	E	I	E	A	A	G	E		L	O	S	V	H	A	V	F	S	A	P	A	V	P	S	G	T	G	Q	T	S	T	E	L	E	V		P	R	H	S
Mouse	L	V	S	F	V	R	I	V	P	S	P	D	W	F	V	G	I	D	S	L	D	L	C	E	G	G	R	W	K	E	Q	V	L	D	L	P	H	D	A	G	T	D	S	G	F	T	F			
Human	L	V	S	F	V	R	I	V	P	S	P	D	W	F	V	G	I	D	S	L	D	L	C	E	G	G	R	W	K	E	Q	V	L	D	L	P	H	D	A	G	T	D	S	G	F	T	F			
Rat	L	V	S	F	V	R	I	V	P	S	P	D	W	F	V	G	I	D	S	L	D	L	C	E	G	G	R	W	K	E	Q	V	L	D	L	P	H	D	A	G	T	D	S	G	F	T	F			
Zebrafish 2	L	L	S	F	V	R	I	V	P	S	P	D	W	F	I	G	V	D	S	L	N	C	E	G	H	I	K	E	N	I	S	L	E	L	P	Y	D	A	G	T	D	S	G	F	T	F				
Zebrafish 1	L	V	S	L	I	V	K	L	I	P	S	P	D	W	F	V	G	I	D	L	N	C	E	G	K	W	K	O	E	V	T	F	D	L	H	P	F	D	A	G	T	D	S	G	F	T	F			
	L	V	S	F	V	R	I	V	P	S	P	D	W	F	V	G	I	D	S	L	D	L	C	E	G	G	R	W	K	E	Q	V		L	D	L	P		D	A	G	T	D	S	G	F	T	F		
Mouse	S	S	P	N	F	A	T	I	P	Q	D	T	V	T	E	I	T	A	S	S	P	S	H	P	A	N	S	F	Y	P	R	L	K	S	L	P	P	I	A	K	V	T	E	V	R	L	O	S		
Human	S	S	P	N	F	A	T	I	P	Q	D	T	V	T	E	I	T	A	S	S	P	S	H	P	A	N	S	F	Y	P	R	L	K	A	L	P	P	I	A	R	V	T	L	V	R	L	R	O	S	
Rat	S	S	P	N	F	A	T	I	P	Q	D	T	V	T	E	I	T	A	S	S	P	S	H	P	A	N	S	F	Y	P	R	L	K	S	L	P	P	I	A	K	V	T	E	V	R	L	R	O	S	
Zebrafish 2	S	S	P	N	F	E	T	I	P	Q	D	K	V	T	O	I	T	S	S	F	P	S	H	P	A	N	S	F	Y	P	R	L	K	H	L	P	P	I	A	K	V	S	L	T	K	I	K	N		
Zebrafish 1	S	S	P	N	F	E	T	I	P	P	E	N	I	T	M	L	T	S	C	K	P	N	H	P	A	N	S	F	Y	P	R	L	N	E	L	P	P	I	A	T	I	L	M	V	K	E	O	-	-	
	S	S	P	N	F	A	T	I	P	Q	D	T	V	T	E	I	T	A	S	S	P	S	H	P	A	N	S	F	Y	P	R	L	K		L	P	P	I	A	K	V	T		V	R	L		S		
Mouse	P	R	A	F	I	P	P	S	I	D	L	A	S	R	G	-	N	E	I	V	D	S	L	S	V	P	E	T	P	L	D	C	E	V	S	L	W	S	S	W	G	L	C	G	G	P	C	G	K	L
Human	P	R	A	F	I	P	P	A	P	V	L	P	S	R	D	-	N	E	I	V	D	S	A	S	V	P	E	T	P	L	D	C	E	V	S	L	W	S	S	W	G	L	C	G	G	H	C	G	R	L
Rat	P	R	A	F	I	P	P	S	I	D	L	A	S	R	G	-	N	E	I	V	D	S	L	S	V	P	E	T	P	L	D	C	E	V	S	L	W	S	S	W	G	L	C	G	G	P	C	G	K	L
Zebrafish 2	Q	T	F	S	L	P	I	O	P	T	O	S	N	O	I	P	S	G	N	E	I	D	G	P	L	I	N	T	P	L	D	C	E	V	S	V	W	S	P	W	G	L	C	K	G	C	G	E	K	
Zebrafish 1	S	R	L	P	V	R	Q	N	R	I	S	N	H	I	L	P	D	A	S	K	P	H	R	E	S	E	T	P	L	D	C	E	V	S	M	W	S	S	W	G	L	C	E	G	P	C	A	R	G	L
	P	R	A	F		P	P				L	S	R			N	E	I	V	D	S		S	V	P	E	T	P	L	D	C	E	V	S	L	W	S	S	W	G	L	C	G	G	P	C	G	L		
Mouse	G	A	K	S	R	T	R	Y	V	R	V	Q	P	A	N	N	G	T	P	C	P	E	L	E	E	E	E	A	E	C	A	P	D	N	C	V														
Human	G	T	K	S	R	T	R	Y	V	R	V	Q	P	A	N	N	G	S	P	C	P	E	L	E	E	E	E	A	E	C	A	P	D	N	C	V														
Rat	G	A	K	S	R	T	R	Y	V	R	V	Q	P	A	N	N	G	T	P	C	P	E	L	E	E	E	E	A	E	C	A	P	D	N	C	V														
Zebrafish 2	G	V	K	H	R	T	R	Y	I	H	M	H	P	A	N	N	G	A	P	C	P	E	L	E	E	E	E	A	E	C	A	P	D	N	C	V														
Zebrafish 1	G	L	R	H	R	T	R	Y	I	L	K	P	A	N	S	G	S	P	C	P	E	L	E	E	E	E	A	E	C	E	F	E	C	T	P	H	N	C	L	A	D	O								
	G																																																	

小鼠Mindin在多个器官都有表达，其中在小鼠肠道、peyer's淋巴小结、脾脏、肠系膜淋巴结、肺脏以及心肌组织等有丰富的表达^[43]。

1.3 mindin 的功能

1.3.1 mindin 与免疫反应

在Mindin基因缺陷型小鼠模型中已有大量研究证实，Mindin在免疫系统中有重大作用。Mindin基因缺陷型小鼠能抵抗脂多糖引起的感染性休克，表现出对广谱微生物刺激的免疫缺陷性反应并且清除细菌感染的能力方面受损。他们分泌的炎症细胞因子TNF- α 和IL-6较正常的小鼠有明显的缺失^[44-46]。在4个不同类型的炎症模型中，在小鼠缺乏细胞外分泌蛋白质mindin的情况下，表现出严重嗜中性粒细胞招募和受损^[47]。此外，在树突状细胞中mindin还能调节Rho GTP酶的表达，增强其抗原提呈的能力。在mindin缺陷小鼠中树突状细胞活化启动CD4⁺ T细胞能力下降^[48]。Mindin能够提高嗜酸性粒细胞的黏附与迁移促进气道炎性反应，这些效应是Mindin与黏附素在炎性细胞中相互作用而实现的。Mindin成为真菌过敏原诱发的过敏性高气道反应中起到关键的作用^[49-50]。这些数据说明了Mindin在固有免疫或适应性免疫反应中都发挥重要作用。

1.3.2 mindin 与免疫佐剂

疫苗是控制并预防感染的有效的药物之一。然而，现实中重组疫苗并不会引起机体强烈的免疫反应，从而使其药效或者产生的免疫抗体不会持久^[51]。蛋白抗原的疫苗与适当的佐剂组合已被广泛地用于诱导免疫应答，特别是体液免疫应答，抗各种病原体，包括寄生虫等。细胞外基质蛋白mindin已被确认为一种能促进免疫反应，发起先天免疫应答和后天性的感染免疫反应的免疫佐剂^[52-53]。mindin作为佐剂可以促进蛋白的重组以有效地刺激体液和细胞反应，包括抗原特异性的IgG1和IgG2a，以及淋巴细胞增殖^[54]。此外，在mindin作为佐剂组相比弗氏佐剂和无佐剂组能显著改善BALB/c小鼠对弓形虫三种抗原（BAG1, SRS4 and SRS9）的感染^[55-56]。

1.3.3 mindin 与肿瘤

人Mindin蛋白在体多种肿瘤中也有表达，如卵巢癌、肺癌、前列腺癌等。Simon等^[57]在临床研究中，通过检测血清中的Spondin-2作为人卵巢癌的新的肿瘤标志

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.